



PATENT
2870-0168P

IN THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant: HAYASHIZAKI, Yoshihide Conf.: 5670
Appl. No.: 09/852,800 Group: Unassigned
Filed: May 11, 2001 Examiner: UNASSIGNED
For: METHOD OF PREPARING ELECTROPHORETIC
SUPPORT, ELECTROPHORETIC MATRIX, AND
METHOD OF ELECTROPHORESIS

L E T T E R

Assistant Commissioner for Patents
Washington, DC 20231

September 19, 2001

Sir:

Under the provisions of 35 U.S.C. § 119 and 37 C.F.R. § 1.55(a), the applicant(s) hereby claim(s) the right of priority based on the following application(s):

<u>Country</u>	<u>Application No.</u>	<u>Filed</u>
JAPAN	11-259013	September 13, 1999

A certified copy of the above-noted application(s) is(are) attached hereto.

If necessary, the Commissioner is hereby authorized in this, concurrent, and future replies, to charge payment or credit any overpayment to Deposit Account No. 02-2448 for any additional fee required under 37 C.F.R. §§ 1.16 or 1.17; particularly, extension of time fees.

Respectfully submitted,

BIRCH, STEWART, KOLASCH & BIRCH, LLP

By 

Andrew D. Meikle, #32,868

ADM:bmp
2870-0168P

P.O. Box 747
Falls Church, VA 22040-0747
(703) 205-8000

Attachment



Bind, Stewart, Kolach, Binb, LLP
703/205-8000
Appen No.: 09/852,800
Docket No.: 2870-0168P

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

1999年 9月13日

出 願 番 号

Application Number:

平成11年特許願第259013号

出 願 人

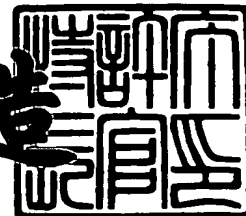
Applicant(s):

理化学研究所

2001年 6月 1日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3051103

【書類名】 特許願

【整理番号】 99587H

【提出日】 平成11年 9月13日

【あて先】 特許庁長官 殿

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市稲荷前 2 2 - 1 - 2 0 1

【氏名】 林崎 良英

【特許出願人】

【識別番号】 000006792

【氏名又は名称】 理化学研究所

【代理人】

【識別番号】 100092635

【弁理士】

【氏名又は名称】 塩澤 寿夫

【選任した代理人】

【識別番号】 100096219

【弁理士】

【氏名又は名称】 今村 正純

【選任した代理人】

【識別番号】 100095843

【弁理士】

【氏名又は名称】 釜田 淳爾

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 007663

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9607613

特平 1 1 - 2 5 9 0 1 3

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 電気泳動用ゲル及び電気泳動法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】二種類以上の極性有機溶媒の存在下でアクリルアミドまたはその誘導体を重合して得られるポリアクリルアミド系重合体からなる電気泳動用ゲル。

【請求項 2】アクリルアミド誘導体が、N,N'-ジメチルアクリルアミドまたはN-(ヒドロキシメチル)アクリルアミドである請求項 1 に記載のゲル。

【請求項 3】極性有機溶媒がホルムアミド及びアルコール類を含む請求項 1 または 2 に記載のゲル。

【請求項 4】アルコール類がメタノールである請求項 3 に記載のゲル。

【請求項 5】アクリルアミドまたはその誘導体の重合の際に水溶性高分子をさらに共存させる請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載のゲル。

【請求項 6】水溶性高分子がデキストラン、ポリエチレングリコールまたはセルロース誘導体である請求項 5 に記載のゲル。

【請求項 7】キャピラリーゲルまたはスラブゲルである請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載のゲル。

【請求項 8】請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載のゲルを用いて極性有機溶媒存在下に核酸またはPNA断片を電気泳動させて分離する方法。

【請求項 9】泳動時に用いる極性有機溶媒がホルムアミド及びアルコール類を含む請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】泳動時に用いるアルコール類がメタノールである請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】核酸がDNAまたはRNAである請求項 8 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、核酸またはPNA断片を電気泳動させて分離する際に使用されるゲル、及びこのゲルを用いた核酸またはPNA断片の電気泳動による分離方法に関する

。本発明のゲルを用いた電気泳動法によれば、特に、塩基配列決定法において必要とされる長さの長い核酸及びPNA断片の分離を良好に行うことができ、長鎖の塩基配列決定法に有効である。

【0002】

【従来の技術】

30億もの塩基対をもつヒトゲノムの塩基配列が解析されつつある。特にヒトゲノムにおける多型性の解析は、個人個人に特有の形質とも関連し、医学的薬理的にも、また生物学的にもすこぶる高い関心がもたれている。従来このようなゲノムの膨大な塩基配列を決定するためには、多試料を同時に高速に高感度に自動的に処理できるようなシーケンサーの開発がおこなわれてきた。特に従来の平板状のスラブゲルに代わってゲルを充填したキャピラリーカラムを多数同時に用いるマルチキャピラリーDNAシーケンサーの出現は、塩基配列決定速度を高めることに著しく貢献してきた。現在、すでに96本（たとえばABI社シーケンサー3700、Molecular Dynamics社MegaBACE1000など）の、また最近では更にその4倍の384本（384本マルチキャピラリーシーケエンシングシステムの開発：第21回日本分子生物学年会抄録1P-570（1998年12月横浜））ものキャピラリーカラムを用いたマルチキャピラリーDNAシーケンサーが開発されている。

【0003】

しかるに、キャピラリーカラムの本数を増加させる場合、配列を読み取るための検出器の性能や構造に起因する制約がある。また、単にキャピラリーカラムの本数を増加させるだけでは、キャピラリーカラム自体の供給及びキャピラリーカラムへの検体のローディング等に必要なとされる労力は低減されない。

【0004】

現在使用されているシーケンサーでは1本のキャピラリーカラムで500塩基前後が読み取れるといわれている。1本のキャピラリーカラムで読み取れる塩基数を増加させれば、キャピラリーカラム自体の供給及びキャピラリーカラムへの検体のローディング等に必要なとされる労力等を低減できるという利点がある。しかるに、個々のキャピラリーカラムについて更に多くの塩基を一度に読み取れるよ

うにするかについての検討は、あまり行われておらず、今後解決すべき問題の一つとして残されていた。

【 0 0 0 5 】

【発明が解決しようとする課題】

そこで、本発明は、個々のキャピラリーゲルにおいて、より長鎖の塩基配列も読み取ることを可能にする手段を提供することを目的とする。

従来のキャピラリーゲルにおいては、鎖長が長くなると、分離度が低下し、一塩基差を分離できなくなるコンプレッションが生じ、塩基配列の読み取りを阻害していた。

そこで、本発明のより具体的な目的は、500塩基を超える鎖長についてもコンプレッションを生じにくい電気泳動用ゲルを提供すること、及びこのゲルを用いてより長鎖の塩基配列の読み取りも可能になる電気泳動法（電気泳動による核酸等の分離法）を提供することにある。

【 0 0 0 6 】

【課題を解決するための手段】

本発明は、二種類以上の極性有機溶媒の存在下でアクリルアミドまたはその誘導体を重合して得られるポリアクリルアミド系重合体からなる電気泳動用ゲルに関する。

さらに本発明は、上記本発明のゲルを用いて極性有機溶媒存在下に核酸またはPNA断片を電気泳動させて分離する方法に関する。

【 0 0 0 7 】

本発明者は、従来より鎖長の長い核酸またはPNA断片まで、一本のキャピラリーカラムで一度に塩基配列を決定できる程度に分離することができ、その結果、塩基配列を決定できるようにゲルの組成を改良し、併せて当該ゲルを用いるときの電気泳動条件、特に電気泳動液についても検討した。

塩基配列決定のための電気泳動に用いられるゲルとしてはポリアクリアミドゲルが一般的に用いられる（参考：高木俊夫編著 PAGE（ポリアクリルアミドゲル電気泳動） 廣川書店1990年）。本発明においては、2種以上の極性有機溶媒、例えば、メタノール及びホルムアミド、の共存下にアクリアミドまたはその誘導

体を重合することにより得られるポリアクリアミド系重合体からなるゲルを用いること、さらには、上記重合において用いたのと同様の極性有機溶媒を含む電気泳動液を用いることによって、上記目的を達成できることを見出して本発明を完成した。

更に本発明のゲルは、デキストランのような水溶性高分子を共存させて得られる弾力性に富んだゲル（相澤克則、蛋白質核酸酵素 43（1998）2191-2198）についても適応できることに関する。

【0008】

【発明の実施の形態】

本発明のゲルは、二種類以上の極性有機溶媒の存在下でアクリルアミドまたはその誘導体を重合して得られるポリアクリルアミド系重合体からなることを特徴とする。本発明で使用される二種類以上の極性有機溶媒としては、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、イソブタノール、tert-ブタノール等のアルコール類、ピリジン、テトラヒドロフラン、ジオキサン、アセトン、アセトニトリル、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、ジメチルスホキシド、N-メチルピロリドン、ヘキサメチルホスファミド等を挙げることができる。

本発明の電気泳動用ゲルは、アクリルアミド誘導体を重合する際に、前記極性有機溶媒を共存させる。アクリルアミド誘導体を重合し、得られた重合体（マトリクス）の空隙に同様の二種類以上の極性有機溶媒を供給しても、本発明が目的とする効果は得られない。また、重合の際に用いる極性有機溶媒が1種類の場合にも、同様に、本発明が目的とする効果は得られない。

二種類以上用いられる極性有機溶媒の組合せには特に制限はないが、例えば、ホルムアミド及びアルコール類の組合せは好ましく、特に、ホルムアミドとメタノールの組合せが好ましい。

【0009】

また、重合に用いるアクリルアミド誘導体には特に制限はないが、例えば、N, N'-ジメチルアクリルアミド、N-（ヒドロキシメチル）アクリルアミドを挙げることができる。アクリルアミド誘導体は単独でも、1種以上の混合物であっても

良い。また、重合に用いる重合開始剤は、アクリルアミド誘導体の重合に通常用いられるものをそのまま使用することができる。また、ゲルの濃度(w/v%)は、分離したい核酸の分子量等を考慮して適宜決定できるが、通常3～10w/v%の範囲、好ましくは約5w/v%とすることが適当である。

【0010】

以下にゲルの製造法をより具体的に説明する。

極性有機溶媒としてメタノール及びホルムアミド用い、100mlスケールで5%のゲルを作成する場合について説明する。

スターラーバーを入れたフラスコかビーカーを準備し、先ず最終濃度6Mになるように尿素36g、純水（好ましくはミリQ処理のもの）25ml、 $\times 10$ TBE緩衝液15ml、アクリルアミド誘導体としてはロングレンジャー（米FMC社）10mlを室温にて順に加えて攪拌し、尿素が溶けるのを待つ。尿素は核酸などの変性剤として添加されるが、添加しなくてもよく、尿素の濃度は0～8Mの範囲とすることができる。尚、尿素の濃度が6Mを越えると、極性有機溶媒が存在しているために、低温（0-10℃）では尿素が析出しやすくなる傾向がある。次に、常時攪拌を続けながら、極性有機溶媒であるメタノール10ml及びホルムアミド10mlを添加混合し、最終容量を100mlにし、更によく混ぜ合わせる。この例では、メタノール及びホルムアミドは最終濃度がそれぞれ10%となる。但し、極性有機溶媒の濃度は、上記に限るものではなく、核酸分離特性等を考慮して適宜決定することができる、例えば、5～15%の範囲とすることができる。また、2種以上用いる極性有機溶媒の濃度は同一である必要はなく、適宜変化させることができる。

【0011】

本発明のゲルには、所望によりデキストランまたはその他のセルロース誘導体のような水溶性高分子を添加することができる。これら水溶性高分子を添加することでゲルの弾力性を向上させることができる（相澤克則、蛋白質核酸酵素43（1998）2191-2198）。水溶性高分子は、例えば、1～30w/v%、好ましくは2～5w/v%程度添加する。水溶性高分子は、上記で得られた反応液に添加し、適宜攪拌することで、反応液に均一に分散溶解させることができる。

【0012】

上記で得られた反応液は、反応液に含まれる微細なごみを除くことが好ましい。これは、キャピラリーカラムでの電気泳動は微細なごみの存在により障害を起こす場合があるからである。反応液中の微細なごみの除去には、例えば、ろ過フィルター（0.22ミクロン）を用いた吸引ろ過を用いることができる。但し、これに限るものではない。不純物を除いた反応液は次にゲルの重合を抑えるために攪拌しながら氷冷する。氷冷する代わりに低温室においてもよい。充分冷却されたのを確認した後、重合開始剤である過硫酸アンモニウム液を適量添加し、さらに必要により脱気を行う。過硫酸アンモニウム液は、例えば、10%液を0.5ml程度添加することができる。但し、必ずしもこれに限るものではない。反応液の脱気は、例えば、反応液を攪拌しながら、減圧下で30分程度行うことができる。過硫酸アンモニウム液を添加し、必要により脱気した後に、重合開始剤であるTEMED（N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン）を反応液に添加する。TEMED添加後、反応液を攪拌しつつ更に5分か10分脱気することが好ましい。上記のように重合開始剤を添加した時点で、重合は開始され、ゲル化が始まる。そこで、以上の工程は、上記のように氷冷下、または低温室にて行うことが、キャピラリーカラム等に充填前のゲル化を抑制すると言う観点から好ましい。

【0013】

〔キャピラリーカラムの準備等〕

本発明に用いられるキャピラリーカラムは、材質、径や長さ等に特に制限はない。例えば、通常マルチキャピラリーDNAシーケンサーに用いられているものであればよく、石英ガラスやホウケイ酸ガラス（たとえばパイレックス）等を材質とし、外径が100~400 μ m、内径が50~100 μ mのものを挙げることができる。またキャピラリーカラムの長さは、分離する対象物に応じて適宜決定することができ、例えば、10~100cm程度であることが適当である。また、シーケンサーなどで蛍光を測定する場合には、蛍光測定の妨げとならないような材質または処理（無蛍光材質での被覆）がなされたものを用いることが望ましい。なお本発明は主にキャピラリーカラムについて記載するが、かならずしもこれに限るものでもなくて、スラブゲルタイプのものを用いてもよい。キャピラリーカラムは使用前に内面を、たとえば1N NaOH、純水、1N HCl、純水の順でよく洗浄するこ

とが好ましい。

【0014】

〔ゲルのキャピラリーカラムへの充填〕

重合開始剤を添加してゲル化が始まった反応液のキャピラリーカラムへの充填は、ゲル充填装置たとえばGVT機（島津製作所製）などを用いて室温で行うことができる。但し、ゲル充填装置の種類は、これに限るものでもない。GVT機等のゲル充填装置を使用する場合、装置を加圧モードにすることで全キャピラリーカラムにゲル溶液（ゲル化が始まった反応液）が満たされる。キャピラリーカラムにゲル溶液が満たされたことを確認し、更に1-2分後に加圧モードを解除する。ゲル溶液が満たされたキャピラリーカラムは、例えば、3時間程度室温にて静置することで、重合を完了させ、そのまま使用することができる。

スラブゲルの場合には、従来と同様の方法で、重合開始剤を添加してゲル化が始まった反応液をゲル板に充填し、一定時間室温に放置することで作製することができる。

【0015】

〔電気泳動〕

本発明は、上記本発明のゲルを用いて極性有機溶媒存在下に核酸またはPNA断片を電気泳動させて分離する方法を包含する。分離対象である核酸はRNA及びDNAのいずれであってもよい。

電気泳動用の緩衝液としては、例えば、TBE緩衝液等の緩衝液に極性有機溶媒を加えたものを用いる。TBEとしては0.5X-5X、好ましく最終濃度が1.5Xのものを挙げることができる。極性有機溶媒としてはその種類、組合せ、量に特に制限はない。但し、ゲルの作製と同様に、2種以上の極性有機溶媒を用いることが好ましい。さらに好ましくは、アルコール類とホルムアミドの混合液、特に好ましくはメタノールとホルムアミドの混合液を挙げることができる。極性有機溶媒の濃度は、例えば、5-15%、好ましくは10%（v/v）であることが適当である。2種以上の極性有機溶媒を用いる場合には、各溶媒の最終濃度が5-15%、好ましくは10%（v/v）であることが適当である。試料のインジェクションは、通常の電気泳動で用いられている条件と同様に行うことができる。例えば

、キャピラリーカラムの場合、0.1-10 k Vで5秒-600秒、好ましくは2 k Vで90秒がよい。泳動は20-70℃好ましくは55℃、1-20 k V、好ましくは4.8 k Vで行うことが適当である。スラブゲルの場合も、試料のインジェクションは、常法に従って行うことができる。

【0016】

〔分離物の検出〕

上記分離法での対象となる試料は、例えば、ローダミン類等で蛍光標識したDNAやRNA等の核酸またはPNA断片であることが、分離物を容易に検出できるという観点から好ましい。但し、これらに限るものでもなく、放射性同位元素等の標識を有するものであってもよい。蛍光標識したDNAやRNAは、キャピラリーシーケンサーなどに付属のレーザー光源と蛍光検出器などを用いて、バンドを検出することができる。スラブゲルの場合にもシーケンサー付属の光源と検出器を用いることができる。

【0017】

【実施例】

以下本発明を実施例によりさらに説明する。

実施例1（ゲルの作成）

ゲルマトリックス（100 ml）は次の試薬を室温で常時攪拌しつつ順次混合して作製した。

- 1) 尿素36 g（最終濃度6M）、
- 2) 純水（ミリQ処理のもの）25 ml、
- 3) ×10TBE緩衝液15 ml、
- 4) ロングレンジャー（米FMC社）10 ml（尿素が溶解した後添加する）
- 5) メタノール10 ml
- 6) ホルムアミド10 ml

以上を混合できたことを確認し、ミリQ純水で容量を100 mlとして、再度よく混ぜ合わせる。更に陰圧にてフィルター（0.22ミクロン）ろ過を室温で行った後、攪拌しながら氷冷（10分）または低温室に置く（30分）。

- 7) 10%過硫酸アンモニウム0.5 ml

上記溶液を引き続き氷冷もしくは低温室にて攪拌しながら、新規に調製した本試薬を添加していく。更に攪拌しながら減圧にて30分ほど脱気を行う。

8) TEMD0.05 ml

速やかに本試薬を添加し、常時攪拌にて、氷冷もしくは低温室で10分ほどの追加脱気する。

このようにして得られた溶液をGVT機（島津製作所製）を用いてキャピラリー（S G E社、内径100 μ 、外径360 μ のフェーズドシリカ製、全長48cm）にゲルを室温にて充填した。充填後、室温にて3時間静置して本発明のゲルを充填したキャピラリーカラムを得た。このキャピラリーカラムを次に電気泳動に使用した。

【0018】

試料のインジェクション

サイクルシーケンス法などで蛍光ラベルしたDNA断片を、脱塩もしくはエタノール沈殿法で純化する。このサンプルにホルムアミドもしくは緩衝液とホルムアミドの混合液を混入し、高温処理（95℃2分）を行う。1cmキャピラリー長あたり5～100ボルトの範囲で、5秒から5分間印加電圧をかけて、陰極側のキャピラリー入口より、サンプルのキャピラリーへのインジェクションを行った。

【0019】

電気泳動

電気泳動用緩衝液としては次の組成のものを常時攪拌、室温にて作製した。

- 1) 純水（ミリQ処理のもの） 325 ml
- 2) x10TBE 75 ml
- 3) メタノール（和光純薬特級137-01823） 50 ml
- 4) ホルムアミド（GibcoBRL15515-026） 50 ml

電気泳動は55℃、4.8kVの条件で行った。

【0020】

検出

キャピラリーの陽極側に近い任意の位置に設置された検出用窓に、アルゴンレーザーを照射し、DNAサンプルの蛍光剤を励起させ、それによって生じる蛍光を

ホトマルにて検出した。

【 0 0 2 1 】

結果

表 1 には、ゲル作製時に極性有機溶媒がどのような条件で存在すると、ゲルの塩基配列読み取り能力が改善されるかを比較したものである。ホルムアミドとメタノールを用いたこの実施例からわかるように、極性有機溶媒は少なくとも 2 種類必要で、単独では効果がなかった。また、調べた限りでは二つの有機溶媒の濃度は各々 1 0 % が最適であった。この条件では、場合によっては 9 0 0 塩基以上が読み取れることもあった。

表 2 は、ゲル作成時の極性有機溶媒の有無と、電気泳動用の緩衝液中での極性有機溶媒の有無とで、ゲルの塩基配列読み取り能力がどのように影響を受けるかをみた結果である。この表から明らかなように、有機溶媒はゲル作成時にも、電気泳動中にも存在させることが最もよい結果を与えることが判明した。

【 0 0 2 2 】

【表 1】

各種ゲルを用いたキャピラリー電気泳動装置での各種ゲルのDNA塩基配列の読み取り能力

ゲルの種類	最長の塩基配列読み取り能力 (塩基数)	
	分離度0.5の場合	分離度0.25の場合
Aゲル	635	810
Bゲル	440	545
Cゲル	500	590
Dゲル	425	520
Eゲル	545	625
Fゲル	470	565

塩基配列読み取り能力は、一塩基長違うDNAフラグメント間の分離度が0.5または0.25を示す塩基配列数で表示した。
用いたキャピラリーチューブ：外径360ミクロン、内径100ミクロンで全長48cmのSGE社製のフューズドシリカキャピラリー。これにゲルを充填する前に1N水酸化ナトリウム、精製水、1N塩酸、精製水の順でチューブ内面を洗浄した。
泳動条件：6kV、55度C、電極液は各々のゲル組成中のゲルとureaを除く成分からなる溶液を使用した。
分析サンプル：M13mp18 single strand DNA (TaKaRa 社)を鑄型とし、BigDye™ Primer (PE Applied Biosystems 社) Kitを用いてCycle sequencing 反応にて蛍光ラベルしたDNA断片。

- Aゲル: 6M Urea, 10% (v/v) formamide, 10% (v/v) methanol, 10% (v/v) Long Ranger™, x1.5 TBE
- Bゲル: 6M Urea, 15% formamide, 15% methanol, 10% Long Ranger™, x1.5 TBE
- Cゲル: 6M Urea, 20% methanol, 10% Long Ranger™, x1.5 TBE
- Dゲル: 6M Urea, 20% formamide, 10% Long Ranger™, x1.5 TBE
- Eゲル: 6M Urea, 10% Long Ranger™, x1.5 TBE
- Fゲル: 6M Urea, 10% Long Ranger™, x1 TBE

特平 1 1 - 2 5 9 0 1 3

【0 0 2 3】

【表 2】

各種ゲルと電極液を用いたキャピラリー電気泳動装置でのDNA塩基配列の読み取り能力

ゲルの種類	電極液の種類	最長の塩基配列読み取り能力 (塩基数)	
		分離度0.5の場合	分離度0.25の場合
Aゲル	10% (v/v) formamide, 10% (v/v) methanol and x1.5 TBE	635	810
Aゲル	x1.5 TBE	520	650
Eゲル	10% (v/v) formamide, 10% (v/v) methanol and x1.5 TBE	555	640
Eゲル	x1.5 TBE	545	625

塩基配列読み取り能力は、一塩基長違うDNAフラグメント間の分離度が0.5 または 0.25 を示す塩基配列数で表示した。
 用いたキャピラリーチューブ：外径360ミクロン、内径100ミクロンで全長48cmのSGE社製のフューズドシリカキャピラリー。これにゲルを充填する前に1N水酸化ナトリウム、精製水、1N塩酸、精製水の順でチューブ内面を洗浄した。
 泳動条件：6kV、55度C
 分析サンプル：M13mp18 single strand DNA (TaKaRa 社)を鋳型とし、BigDye™ Primer (PE Applied Biosystems 社) Kit を用いてCycle sequencing 反応にて蛍光ラベルしたDNA断片。

Aゲル: 6M Urea, 10% (v/v) formamide, 10% (v/v) methanol, 10% (v/v) Long Ranger ™, x1.5 TBE
 Eゲル: 6M Urea, 10% Long Ranger ™, x1.5 TBE

【 0 0 2 4 】

【発明の効果】

本発明によれば、500塩基を超える鎖長にといてもコンプレッションを生じにくい電気泳動用ゲルを提供することができる。さらに本発明によれば、このゲルを用いてより長鎖の塩基配列の読み取りも可能になる電気泳動法（電気泳動による核酸等の分離法）を提供することができる。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 個々のキャピラリーゲルにおいて、より長鎖の塩基配列も読み取ることが可能にする手段を提供すること。

【解決手段】 二種類以上の極性有機溶媒の存在下でアクリルアミドまたはその誘導体を重合して得られるポリアクリルアミド系重合体からなる電気泳動用ゲル。上記アクリルアミド誘導体は、例えばN,N'-ジメチルアクリルアミドまたはN-(ヒドロキシメチル)アクリルアミドであり、極性有機溶媒はホルムアミド及びアルコール類を含む。上記ゲルを用いて極性有機溶媒存在下に核酸またはPNA断片を電気泳動させて分離する方法。泳動時に用いる極性有機溶媒は例えばホルムアミド及びアルコール類を含む。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000006792]

1. 変更年月日 1990年 8月28日
[変更理由] 新規登録
住 所 埼玉県和光市広沢2番1号
氏 名 理化学研究所